

有关提高大豆和其它豆类 含硫氨基酸的研究进展

林忠平 付燕凤

(中国科学院植物研究所)

尹光初

(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

随着人民生活水平的提高和国际市场上对商品大豆品质的要求与日俱增,培育高蛋白和优质蛋白的大豆品种已成为育种家和大豆生产者面临的重要任务。

豆类,尤其是大豆含蛋白质十分丰富。一般豆类含20—30%蛋白质和大约60%的碳水化合物。大豆大约含40%的蛋白,26%碳水化合物,20%油脂,4%矿物质,2%磷脂,以及丰富的水溶性和脂溶性维生素。所以大豆的营养价值很高。然而和一些动物蛋白相比,豆类蛋白的有效利用率(PER、Protein efficiency ratio)还是低的。

蛋白质的质量受如下因素的作用:蛋白质中必需氨基酸的组成,氨基酸的平衡,必需氨基酸的生物学可用性,为动物或人体消化的程度,抗营养物质对蛋白质利用的干扰等。最重要的因素是氨基酸的平衡,尤其是必需氨基酸的平衡。

将豆类的氨基酸组成与联合国粮农组织所制定的标准参考蛋白(FAO Reference Protein)及整个鸡蛋里必需氨基酸的构成做一个比较(表1)^[22, 52]就可以看出:大豆及各种豆类的蛋白富于赖氨酸(禾谷类蛋白往往缺乏赖氨酸),缺乏含硫的一种氨基酸,即甲硫氨酸,其次是缺乏色氨酸。另外一种构成蛋白质的含硫氨基酸是半胱氨酸,它虽不属于必需氨基酸,但它可以节省对甲硫氨酸的利用。所以人们把提高豆类中两种含硫氨基酸(以下称这两种氨基酸为S-氨基酸)含量做为改进豆类蛋白品质的主要目标。

S-氨基酸和色氨酸是豆类营养价值的限制性氨基酸。在豆类种子中这两种氨基酸的变化范围是很大的。一些研究者^[8, 19, 38, 58]在大豆等豆科植物中进行高S-氨基酸的筛选,发现甲硫氨酸的变动范围为0.5—1.9克/16克N,色氨酸的变动范围为0.4—

* 本文于1985年3月9日收到。

表 1 豆类种子必需氨基酸的组成 (克/100克蛋白质)

Table 1. Essential amino acid composition of pulses (g/100g protein)

氨基酸 Amino acids	羽扇豆 Lentil	豌豆 Peas	菜豆 Beans	绿豆 Green gram	大豆 Soybean	参考蛋白 FAO reference protein	鸡蛋蛋白质 Egg protein
赖 Lys	5.1	8.9	6.8	7.3	6.3	4.2	7.2
苏 Thr	3.0	4.2	3.8	3.4	4.1	2.8	5.5
缬 Val	5.1	6.5	5.4	6.9	4.7	4.2	7.4
亮 Leu	5.5	9.5	8.9	7.7	7.1	4.8	7.8
异亮 Ile	5.8	7.4	6.0	6.3	4.3	4.2	6.8
甲硫 Met	0.6	1.3	1.0	1.5	1.2	2.2	3.4
色 Try	0.6	0.7	1.0	0.4	1.2	1.4	1.5
苯丙 Phe	4.0	4.6	5.5	5.3	4.9	2.8	5.8
精 Arg	7.0	13.4	9.2	6.3	6.7	—	6.7
组 His	2.1	2.7	2.8	2.7	3.3	—	2.4

—1.5克/16克N。S—氨基酸水平高的要比低的高出2—3倍。

豆科植物种子中S—氨基酸的多寡主要由遗传因素决定,同时也受环境因素的很大影响^[18, 39, 42, 43]。

Eppendorfer^[14]进行蚕豆盆栽实验,发现调节土壤中S、N、P之间的平衡关系可以增加蚕豆中与S—氨基酸的比例,提高蚕豆的营养价值。在N、P平衡的基础上施用S和在S、N平衡的基础上施用P都可增加干物质的积累。S的施用可使半胱氨酸和甲硫氨酸分别增加39.1%和13.7%。营养学的指标生物价(biological value)和蛋白质净利用率(NPU Net protein Utilization)亦有显著提高。Bressani^[11]曾报导给豌豆施以硫肥,使种子蛋白质中蛋氨酸含量从1.29克/100克蛋白质增加到2.18克/100克蛋白质。另外的作者^[22]发现当S增加到90ppm时,豌豆种子S—氨基酸随着增加,但更高水平的S并不增加S—氨基酸的量。Kapoor等人^[31]研究了不同地块,主要是土壤状况不同对大豆S—氨基酸的影响。认为施用磷肥对籽粒中S—氨基酸没有什么影响。Gupta, D. P. 和 Gupta A. K.^[23]对豌豆施用硫肥不增加豌豆蛋白的甲硫氨酸,而施用硼肥却增加了甲硫氨酸的含量。

在许多土壤中没有缺S的问题。在施用硫酸铵时土壤中N和S都增加了。当S缺乏时植物变成萎黄色,也表现出缺N的症状,并且在植株内有硝酸根的积存^[12]。Stewart^[58]强调合理施S肥,提供充分的S以平衡N的摄取。另一些作者^[10, 15, 55],认为,如果N是充足的,S的缺乏并不抑制N进入蛋白质。然而各种蛋白质组分之间的比例关系发生了变化,缺少S—氨基酸的那些蛋白质的比例增加了。这种情况在豌豆、羽扇豆中都有明显的表现。

对于S进入植物体后的代谢,S如何被还原,如何转化成蛋白质的S,已有相当详

尽的研究^[24]。S 的代谢可用如下的图式 (图 1) 作一扼要的介绍。

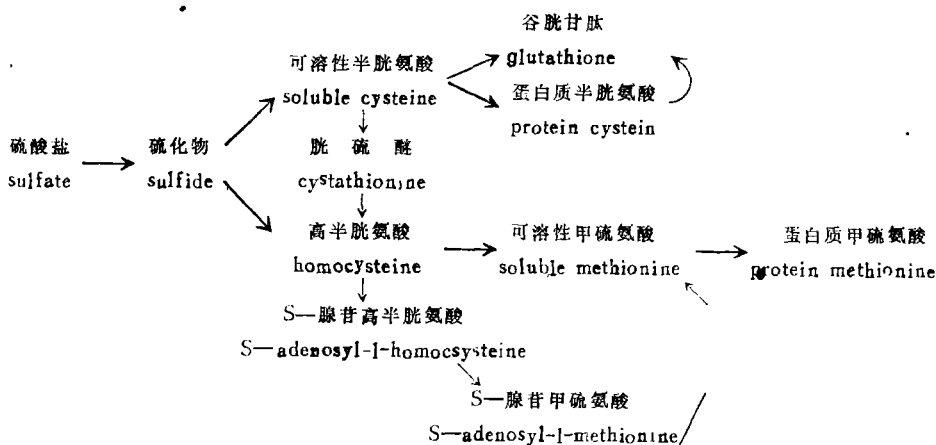


图 1. 植物硫代谢示意图

Fig. 1 Working model of main fluxes of sulfur in plant.

在豌豆种子发育的一定阶段, 取下子叶, 培养于以 SO_4^{2-} 为唯一硫源的培养基上, 子叶可以继续生长并合成贮存蛋白。这表明在离体条件下发育中的子叶可以将 SO_4^{2-} 还原成半胱氨酸^[45, 30], 但是用一种豇豆 (*Vigna radiata*) 做的实验说明, 在植物体上还原态的 S 转运到种子中去的主要形式是高谷胱甘肽 (HGSH)^[23]。

Holowach 等人^[26, 27]对离体条件下外源甲硫氨酸进入大豆子叶及其在各蛋白组分中的分布进行了详细的研究, 证明在离体条件下培养基中附加甲硫氨酸可以增加子叶中蛋白质甲硫氨酸的含量。

前面提到种子蛋白中 S-氨基酸的量主要决定于遗传因素。不同遗传类型的豆子, 其蛋白质中的 S-氨基酸的含量为什么是不同的呢? 已经知道种子蛋白的主要部分是贮存蛋白 (Storage protein), 其它如膜蛋白、酶蛋白、核蛋白、核糖体蛋白等只占很小的部分。贮存蛋白中有一部分是白蛋白, 大部分是球蛋白, 球蛋白又分所谓 Legumin 和 Vicilin, 即 11S 球蛋白和 7S 球蛋白等^[28]。在许多大豆中总蛋白 63% 是球蛋白, 12% 为白蛋白, 3% 为醇溶蛋白, 7% 为谷蛋白^[44]。这些蛋白质又由各种不同的亚单位组成, 由基因编码的这些亚单位因结构基因的差异而具有不同的氨基酸组成。因之各种蛋白中所含 S-氨基酸的多寡也就各不相同^[1]。育种家们要通过改变基因类型, 改变各部分蛋白的比例关系, 从而提高某些必需氨基酸的含量。这是目前改善种子蛋白品质的主要途径, 已经在玉米、大麦、水稻、高粱等谷物中取得成功。富于赖氨酸的奥帕克 2 号 (Opaque-2) 玉米就是最有名的例子。

许多豆科植物的白蛋白含有较高的甲硫氨酸和其它必需氨基酸^[44, 22]。豌豆白蛋白含甲硫氨酸 1.1 克/16 克 N, 豌豆球蛋白含甲硫氨酸 0.5 克/16 克 N^[35]。在不同品种的豌豆中白蛋白所占的比例变异很大, 从 17% 至 35%。有的突变种白蛋白含量高达 42%^[47], 所以在豌豆育种中对白蛋白的分析十分重要。Bajaj^[20]测定并推算出各种变异的豌豆中白蛋白含量与 PER 值之间的关系: $\text{PER} = 24.7x - 13Bx^2 - 8.8$ (x = 豌豆干粉中

所含白蛋白氮的百分数)。

大豆和许多豆类种子球蛋白主要包括 11S 球蛋白和 7S 球蛋白, 这两部分球蛋白的氨基酸组分有很大差异 (表 2) [1, 44]。

表 2 各种豆料植物种子中 7S 和 11S 蛋白必需氨基酸的组分(克/16克 N)

Table 2. Essential acid contents in 7S and 11S seed protein fractions of different legumes (g/16g N)

氨基酸 Amino acids	标准蛋白 FAO standard protein	大豆 <i>Glycine max</i>		菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>		豇豆 <i>Vigna ungu- iculata</i>		豌豆 <i>Pisum sativum</i>		蚕豆 <i>Vicia faba</i>	
		7S	11S	G ₁	11S	7S	7S	11S	7S	11S	
甲硫 Met	1.90	0.3	1.3—1.8	0.57—1.35	1.5	0.98	0.22	0.65	0.2—0.7	0.3—0.7	
半胱 Cys	1.10	0.3	1.4—1.7	0.0—0.13	0.6	0.56	0.35	0.71	0.13—0.4	0.74—1.26	
色 Try	2.10	0.3	1.5—1.6	—	2.9	2.23	0.09	1.06	—	1.13	
缬 Val	5.80	5.1	4.9—5.1	4.10—5.89	7.0	4.95	4.6	4.6	4.3—5.6	4.4—5.1	
苏 Thr	4.89	2.8	3.4—4.1	2.56—3.41	4.9	2.99	3.4	2.9	2.6—3.8	3.4—3.9	
亮 Leu	8.30	10.3	7.2—8.1	9.42—11.82	8.7	6.36	9.2	8.1	8.9—9.7	7.3—8.5	
异亮 Ile	4.60	6.4	4.7—4.9	4.66—5.47	4.9	3.86	5.1	4.0	5.1—5.7	4.0—4.3	
赖 Lys	6.21	7.0	4.9—5.7	7.38—8.87	7.8	6.75	7.9	4.9	6.6—8.2	4.2—5.3	
苯丙 Phe	6.40	7.4	5.6—5.7	7.78—10.82	3.6	8.66	6.2	4.9	4.0—6.8	3.2—4.8	

从表 2 可以看出, 11S 蛋白 S—氨基酸远高于 7S。此外球蛋白是一种典型的贮存蛋白, 它不象其它蛋白那样容易受环境条件和代谢状况的影响。所以通过筛选富于 11S 蛋白的种子来选育优质蛋白的品种是一个很好的途径 [2, 51]。

Kapoor 和 Gupta [30] 对大量的大豆样品做了测定, 指出大豆球蛋白含有种子全部甲硫氨酸的 73%, 含有种子全部色氨酸的 71%, 白蛋白部分含全部种子甲硫氨酸的 16%, 色氨酸的 20%。他们 [31] 还对不同基因型的大豆, 做了电泳图谱的比较。看出不同基因型之间在各种蛋白组分比例上存在差异。

Kitamura 和 Kaizuma [37] 对 1700 个大豆突变系的 11S 蛋白与 7S 蛋白的比值进行了测定。在他们实验中 11S/7S 平均值为 1.12。他们找到 11S/7S 比值高的品系, 11S/7S 分别为 2.59 和 1.61。11S/7S 高的品系其 S—氨基酸比普通大豆高 1.2 倍。我们对大豆属的球蛋白组分进行了测定。在许多品系中, 高的 11S/7S 与籽粒高蛋白有正的相关关系。11S/7S 高的一些品系其 S—氨基酸比普通种子高出 1 倍 [4]。

蛋白组分的变化, 由植物的遗传类型来决定。同时应注意到外部条件对基因表达的影响。Holowach 等人 [26, 27] 用离体大豆子叶做的实验证明外源甲硫氨酸提高了子叶球蛋白中甲硫氨酸的含量, 而且增加了 11S/7S 的比值。在培养基中附加甲硫氨酸可以抑制 7S β —亚基基因的表达。7S 蛋白中的 β 亚基是不含甲硫氨酸的 [57]。把未成熟的子叶培养

于不同 SO₄ 水平的培养基中的实验表明在不含 SO₄ 和缺乏 SO₄ 的情况下子叶的生长和蛋白质的积累受到抑制。但 7S 和 11S 蛋白的各亚基组分都能产生, 11S/7S<1.0。在这种培养基中补充 8.4mM 的甲硫氨酸可以克服由于培养基中缺少 SO₄ 所引起的子叶生长和蛋白质积累的停滞。在含有 1.5mM SO₄ (中等水平的硫) 和 7.5mM SO₄ (超出一般需要的硫) 的培养基中子叶增重和蛋白质积累都相同。在 7.5mM SO₄ 的培养基上, 子叶 11S/7S 比值增大了。实验还表明在所有附加甲硫氨酸的培养基上, 11S/7S 都在 1 以上, 而且在 7S 部分缺少 β 亚基。表 3 的资料表明培养基中 S 的水平, 尤其是甲硫氨酸的有无不仅影响到蛋白质的组分, 而且对于组成蛋白质分子各亚单位的比例有很大影响。

表 3 离体大豆子叶在含 S 不同的培养基上 7S 和 11S 贮存蛋白及其亚基的组成

Table 3. The composition of 7S, 11S and their subunit in soybean cotyledons in media with various concentrations of sulfate

培养基中 的SO ₄ SO ₄ in Media (mM)	培养基中 的甲硫氨酸 Met in Medium (mM)	7S	7S 中两种亚基所占百分数			11S	11S 中两种亚基的比例	
		(mg/g 鲜重)	Subunit as % of 7S			(mg/g 鲜重)	Subunit as % of 11S	
		7S	α	α'	β'	11S	酸性亚基	碱性亚基
		(mg/g fresh wt)	(依氨基酸残基数计) (molar basis)			(mg/g fresh wt)	(依氨基酸残基数计) (molar basis)	
			α	α'	β		Acidics	Basics
0	0	17.1	16.1	37.3	46.6	9.3	51.3	48.7
0	8.4	29.0	39.3	60.7	0	37.0	52.3	47.7
0.017	0	15.9	21.1	38.6	40.3	9.8	49.5	50.4
0.017	8.4	28.0	37.2	62.8	0	48.0	46.0	54.0
1.5	0	42.2	16.3	39.8	43.9	30.7	53.0	46.9
1.5	8.4	27.1	40.9	59.1	0	43.7	49.0	51.0
7.5	0	32.9	31.3	54.9	13.8	47.3	53.0	47.0
7.5	8.4	30.5	41.9	58.1	0	53.3	46.1	53.9

这里我们提一下胰蛋白酶抑制剂 (Trypsin inhibitor) 往往含有较高的甲硫氨酸。大豆蛋白平均含甲硫氨酸 1.5%。Board (58) 等人曾在一个大豆突变系里找到 5 个低分子量的胰蛋白酶抑制剂, 其甲硫氨酸含量分别为 1.9%、5.2%、3.6%、3.3% 和 1.6%, 而且半胱氨酸含量增加 20%, 胰酶通常被认为是一种破坏蛋白质消化的因素, 但在充分加热的大豆食品中, 它本身可以做为人和动物营养的一部分。

另一个环境因素调节基因表达的典型例子是羽扇豆种子球蛋白的调节。羽扇豆种子含 α 、 β 、 γ , 三种球蛋白, 各含甲硫氨酸 0.2%、0.0% 和 1.3%。为选育高甲硫氨酸的品种, 人们选择 γ 和 α 球蛋白高的种子。但是在缺 S 的情况下, 种子中甲硫氨酸的量非常低, 人们发现其所含球蛋白大部分都是 β 球蛋白 (25)。豌豆植株处于缺 S 状态时, 富于

S-氨基酸的豆球蛋白的基因转录停止了。如果补充了 SO₄，豆球蛋白 mRNA 的转录就开始了^[11]。

许多育种家发现大豆和各种豆类 S-氨基酸的变异范围很大，提供了足够的变异性来选择优质蛋白的基因型。然而改进蛋白质的质量作为一个生产的问题遇到了许多复杂的情况。因为高产、高蛋白和氨基酸平衡难以兼顾。在改进谷物蛋白的育种中籽粒产量和蛋白质含量常表现负的相关关系。这个情况在豆类中表现并不明显，兼具高产和高蛋白的大豆和蚕豆等在良种选育中是常见的，然而由于环境因素对豆类产量影响很大，我们不清楚产量，籽粒蛋白，以及蛋白质中氨基酸的平衡在遗传上相互关系。有的品种籽粒品质十分理想，但开花晚、成熟晚，适应地区范围窄。总而言之情况是复杂的。这是迄今为止在生产上见效的高营养价值的品种甚少的一个原因^[51]。举例来说，联邦德国遗传所^[20, 43]筛选出一些有特色的 γ 射线诱变的突变系（图 2）。其中 46C 与对照亲本相比，除缬氨酸外所有必需氨基酸都增加了，但它属于早熟低产类型。489C 茎高，上部节间短，荚多，株型优良，但其蛋白含量和氨基酸平衡上都没有什么改善。1201A 必需氨基酸的增加虽不如 46C，但由于茎分两枝，产量高，而且大部分必需氨基酸都增加

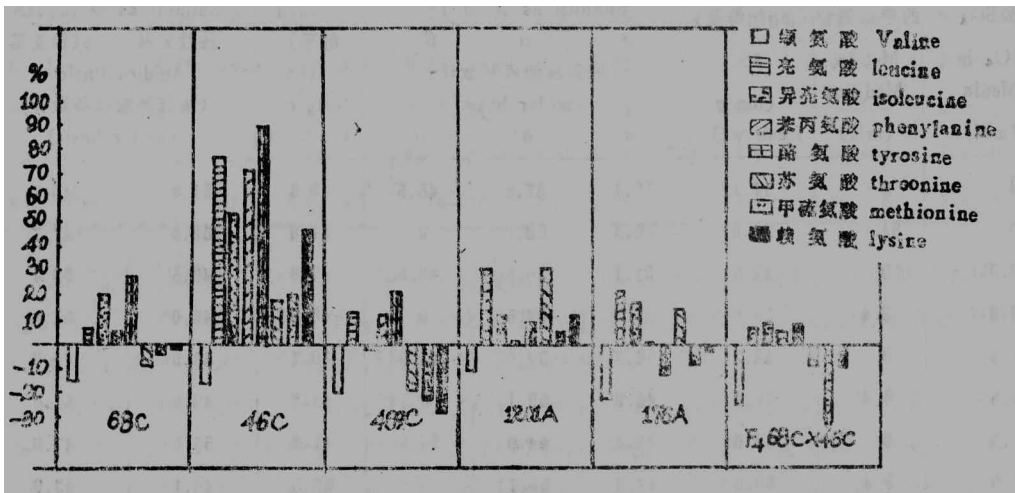


图 2 5 个豌豆突变系 8 种氨基酸相对含量 (对照=100)

Fig. 2 Relative content of eight amino acids in the seeds of five *Pisum* mutants (control=100).

了是个比较好的突变系。68C 每荚胚珠多，在产量上有优势，设想通过与 46C 杂交，把有用的基因加在一起，但结果产量和必需氨基酸反而降低了。

Pandey 等人^[54]对诱变处理后的一个蚕豆群体进行高甲硫氨酸和低甲硫氨酸的双向选择，经过 3 个周期的选择得到表 4 的结果。它表明甲硫氨酸含量的提高与蛋白质含量的提高是平行的。但与籽粒产量为负相关。他们认为选择高 S-氨基酸比选择高蛋白更为优越，因为这样可以确保蛋白质的质量，同时改进籽粒质量和获得较好的产量，这两者仍是可能的，但是另一些作者^[28, 50]从 γ 射线和 EMS 化学诱变的蚕豆后代中选

出一些高蛋白的品系，发现精氨酸含量有明显的增加，但甲硫氨酸含量未有明显的改进。有的作者^[27]发现高蛋白的蚕豆在种皮部分增加了甲硫氨酸的量。

表 4 蚕豆经三轮甲硫氨酸双向选择后群体中种子质量、产量和株高
Table 4. Means of seed quality, yield and plant height in populations of *Vicia faba* after three cycles of two-way selection for methionine content

群 体 Population	甲硫氨酸 Methionine (mg/g)	蛋 白 质 Protein (%)	甲硫氨酸/蛋白质 Methionine/protein (mg/g)	单株产量 Yield per plant (g)	植株高度 Plant height (cm)
	1.66	36.3	4.58	16.76	128.2
	1.39	32.2	4.15	22.35	138.3
	0.29**	3.1**	0.43***	5.59*	10.1**

*, ** 差异显著性分别 5 % 和 1 %。
*, ** Significant at the 5 % and 1 % levels respectively

Kapoor 等人^[34]对 18 个不同基因型的大豆进行了测定，结果表明籽粒中甲硫氨酸的百分率与所含蛋白质有正相关。Kelly^[38]分析了 20,000 个菜豆品系，甲硫氨酸含量最高的一个品系可以比平均的甲硫氨酸含量高 7 倍。可供选择的变异性很大。将一个低甲硫氨酸的品系与一个高甲硫氨酸品系杂交时，在 F₁ 和 F₂ 甲硫氨酸的表现是居中的或稍偏低的，低甲硫氨酸对高甲硫氨酸的品系与一个高甲硫氨酸氨基酸占有优势。如果低甲硫氨酸的品系为母体，那么 F₁ 代甲硫氨酸的含量与母本的自交系没有显著差异。安徽省农科院^[3]在进行高蛋白大豆育种的同时筛选出两个高 S—氨基酸的品系：皖 82—18（其中甲硫氨酸为 1.72%，半胱氨酸为 1.29%，合计为 3.01%）和皖 82—15（其中甲硫氨酸为 1.82%，半胱氨酸为 1.11%，合计为 2.93%）。

看来在保持较高水平的单位面积蛋白质产量的前提下，实现大豆蛋白的改良是可能的。但是改造植物蛋白遗传类型不是容易的，其过程不会是很快的。这里我们提及利用基因工程改造植物蛋白的设想，改变贮存蛋白内部结构虽然困难，通过基因工程的途径增加编码富于 S—氨基酸的那些蛋白质的基因的容量和提高这些基因的表达水平是可行的^[41]。

研究者们认为要进行大豆等豆类蛋白营养水平的改良，必须对品种资源做大量的调查和筛选。目前进行豆类优质蛋白选育的困难在于缺少适当的方法对繁多的种子样品进行 S—氨基酸快速、简便的测定。目前通用的氨基酸分析是以离子交换柱层析为基础。许多实验室装备了氨基酸分析仪。但这类工作或费时间或费钱。采用气相色谱法分析样品，也要先做溴化氰处理。这就限制了对大量样品进行分析。Mc Carthysullivan 的比色法快速而准确，但是有的材料有色素的干扰。为适应对大量种质资源的筛选，许多研究者提出通过测定种子中的总 S 量作为豆类蛋白质质量的一个指标^[13, 56]。

Portor^[52]等人研究了通过总 S 分析来评价菜豆、豇豆等种子蛋白质的质量，他发现总 S 量与甲硫氨酸加半胱氨酸之间有高度的相关性，而且同 PER 也有很大的相关

性。Miller 和 Donoso^[49] 提出食物中 S 和 N 的比例可以做为测量人类膳食中蛋白质量的一个指标。Kaul 和 Gassi^[40] 分析了 1320 个鹰嘴豆 (*Cicer arietinum* L.) 样品, 认为种子中总 S 和甲硫氨酸含量之间有一定的相关关系, 二者之间的变换系数为 0.267。

Radford 等人^[56] 研究了栽培大豆和野生大豆 S—氨基酸的量与籽粒中 N/S 比之间的关系。各种遗传类型的大豆 N/S 变化范围在 24.5—15.4。平均值为 18.3。G. *gracilis* 的 N/S 为 20.1—16.3 平均为 18.4。G. *soja* 的 N/S 为 21.5—12.5 平均为 17.5。两个生长季收获的种子进行比较, 结果是比较稳定的, 尤其是 G. *soja* 和 G. *gracilis*。在 S—氨基酸与总 S 百分率之间有着高度的相关性, $r=0.847$ 。每 16 克 N 中甲硫氨酸加半胱氨酸与 N/S 比值之间相关性也很高, $r=0.787$ 。这些结果表明 N/S 可以用于 Glycine 属品质资源的快速筛选。

测定总 S—量的方法有多种^[5]。硝酸—高氯酸消化法^[6]是一种常见的方法。为适应大量品种资源的筛选, 一些研究者^[7, 48] 提出采用 x—射线荧光分光光度计来测定种子中的总 S 量。此法的优点在于样品处理非常简单。Wood 等人^[38] 采用微生物方法测定种子中可利用的甲硫氨酸, 作为鉴定蛋白质营养水平的一个指标。这个工作是很有意思的, 在他们实验室里每天可以测定 40—80 个样品。

我国是大豆的原产地, 又有悠久的农业历史, 大豆和其它一些豆类品种资源及野生种资源非常丰富。开发和利用这些植物蛋白的资源, 对其蛋白质的品质进行深入的研究和选择, 必将大有益于我国大豆和各种豆类的品质育种。

THE STUDY OF INCREASING SULFUR-AMINO ACID IN SEEDS OF SOYBEAN AND OTHER PULSES

Lin Zhongping Fu Yenfeng

(Institute of Botany, Academia Sinica)

Yin Guangchu

(Soybean Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences)

Abstract

An increasing of sulfur-amino acid content in seeds of soybean and other legumes is closely related with the improvement of their nutritive value. This paper is dealing with the following problems: the essential amino acid balance in legumes, the metabolism of S amino acids, heritability and variability of S-amino acids content the relationship between both nitrogen and sulfur nutrition, the effects of some genetic and environmental factors on sulfur-amino acid content in seeds and so on. This paper also describes the achievement on the improving S-amino acid content of seeds in legume breeding.

参 考 文 献

- [1] 林忠平、尹光初, 1983: 大豆贮存蛋白研究, 大豆科学, 2, 232—238.
- [2] 林忠平、尹光初、雷勃钧, 1985: 科学通报, 30, 462—465.
- [3] 戴珉和, 1984: 安徽省大豆蛋白的开发利用及营养成分的改进, 全国植物蛋白学术讨论会资料.
- [4] 尹光初、雷勃钧、林忠平、崔庆玲, 1985: 待发表的资料.
- [5] Boulter D. and Evans I. M. 1976 *In* Evaluation of Seed Protein Alterations by Mutation Breeding. P. 147—149, IAEA, Vienna.
- [6] Blanchard R. W., Rehm G. and Calawell 1985 Soil Sci. soc Amer. Proc. 29, 71—72.
- [7] Bolton J., Brown G., Pruden G. and Williams C. 1973 J. Sci. Food, Agric. 24, 557.
- [8] Bressani R. and Elias L. C. 1977 *In* Nutritional Standards and Methods of Evaluation for Food Legume Breeders. J. H. Hulsey, K. O. Rachie and L. W. Billingsley, eds. PP. 51—61. International Development Research Centre, Ottawa.
- [9] Bajaj S. 1973 *In* Nutritional Improvement of Food Legumes by Breeding. Milner ed. PP. 223—232, PAG New York.
- [10] Blafrove R. J., Gillespie J. M. and Randall P. J. 1976 Aust. J. Plant Physiol. 3, 173—184.
- [11] Bressani R. 1975 *In* Nutritional Improvement of Food Legumes by Breeding. Milner M. ed. P. 15. Proceeding of a Symposium Sponsored by PAG, FAO, Rome, 1972, John Wiley and Sons, New York.
- [12] Byers M., Kirkman M. A. and Mifflin B. J. 1978 *In* Plant Proteins G. Norton ed. P. 227—244. Butterworths. London.
- [13] Carpenter. K. J. and Woolfe J. A. 1973 *In* Nutritional Improvement of Food Legumes by Breeding. PP. 313—318. IAEA, Vienna.
- [14] Chandler P. M., Higgins T. J. V., Randall P. J. and Spencer D. 1983 Plant Physiol. 71, 47—54.
- [15] Dijkshoorn W., Vanwijk A. L. 1967 Plant Soil 26, 129—157.
- [16] Eppendorfer W. H. 1971 J. Sci. Ed Agric. 22, 503—505.
- [17] Foard D. E., Hwang D. L., Pao W. L., Wong Huang W. O., Yang W. K. 1979 *In* Cereals and Grain Legumes. P. 430, IAEA, Vienna.
- [18] Gottschalk W. and Müller H. P. 1979 *In* Seed Protein Improvement in Cereals and Grain Legumes, Vol. I: 259—272. IAEA, Vienna.
- [19] Gottschalk W. 1983 *In* Seed Proteins, Biochemistry, Genetics, Nutritive Value. Gottschalk W. and Müller H. P. eds. PP. 377—402, M. N./Dr. W. Publishers. The Hague/Boston/London.
- [20] Gottschalk W. and Müller H. P. 1970 *In* Improving Plant Protein by Nuclear Techniques. P. 201—211 IAEA, Vienna.
- [21] Gupta Y. P. and Das N. B. 1955 Ann. Biochem. 15, 75—78.
- [22] Gupta Y. P. 1983 *In* Chemistry and Biochemistry of Legumes, S. K. Arora ed. Edward Arnold, PP. 287—327.
- [23] Gupta D. P. and Gupta A. K. 1977 Carr. Agric. 1, 50—55.
- [24] Giovanelli J., Mudd S. H. and Dalko A. H. 1980 *In* the Biochemistry of Plants. Vol. 5 Amino Acids and Derivatives. BJ. Mifflin ed. PP. 453—505.
- [25] Gillespie J. M. and Blafrove R. J. 1976 *In* Evaluation of Seed Protein Alterations by Mutation Breeding. IAEA, Vienna.
- [26] Holowach L. P., Thompson J. F. and Madison J. J. 1984 Plant Physiol. 74, 576—583.
- [27] Holowach L. P., Thompson J. F. and Madison J. T. 1984 Plant Physiol. 74, 584—589.
- [28] Hussein H. A. S. and Abdalla M. M. F. 1979 *In* Seed Protein Improvement in Cereals and Grain Legumes. Vol. II. P. 23—31 IAEA, Vienna.
- [29] Hussein H. A. S. and Abdalla M. M. F. 1978 *In* Seed Protein Improvement by Nuclear Techniques, PP. 253—264 IAEA, Vienna.
- [30] Thompson J. F., Madison J. T. and Muenster. A. M. E. 1977 Ann. Bot., 41, 29.
- [31] Kapoor A. C. and Gupta Y. P. 1977 J. Food Sci. 61 1558—1561.

- [32] Kapoor A. C. and Gupta Y. P. 1977 Indian J. Nutr. and Dietet. 41, 100—107.
- [33] Kapoor A. C. and Gupta Y. P. 1977 J. Agric. Ed. Chem 25, 670—673.
- [34] Kapoor H. C. Srivastava V. K. and Gupta Y. P. 1972 Indian J. Agric. 42, 296—299.
- [35] Kapoor A. C. and Gupta Y. P. 1979 Curr. Agric. 3, 173—179.
- [36] Kapoor H. C., Srivastava V. K. and Gupta Y. P. 1972 Indian J. Agric. Sci. 42, 296—299.
- [37] Kitamura K. and Kaizuma N. 1981 Japan J. Breed, 31, 353—359.
- [38] Kelly J. F. 1971 J. Amer. Soc. Hort. Sci 96, 561—263.
- [39] Kelly J. D. and Bliss F. A. 1975 Crop Sci. 15, 753—757.
- [40] Kaul, A. K. and Gassi S. 1971 Curr. Sci. 10, 652—654.
- [41] Larkins B. A. 1983 In Genetic Engineering of Plants. T. Kosuge and C. P. Meredith eds. P. 93—115. Plenum Press, New York/London.
- [42] Lantz E. M., Gough H. W. and Campbell A. M. 1958 J. Agric. Food Chem. 6, 58—60.
- [43] Muller H. P. and Gottschalk 1978 In Seed Protein Improvement by Nuclear Techniques; 301—314; IAEA, Vienna.
- [44] Muller H. P. 1983 In Seed Proteins, Biochemistry, Genetics, Nutritive Value. W. Gottschalk and H. P. Müller eds. PP. 307—354.
- [45] Millerd A., Spencer D., Dudman W. F. and Stiller M. 1975 Aust. J. Plant Physiol., 2, 51.
- [46] Macnicol I. K. and Bergmann L. 1984 Plant Science Letters, 36, 219—223.
- [47] Murray D. R. 1979 Plant Cell and Environment 2, 221—226.
- [48] Maranville C. J., Mattern P. J. and Clark R. B. 1984 Crop Sci. 24, 303—306.
- [49] Miller D. S. and Donoso G. 1983 J. Sci. Food Agric. 14, 345—349.
- [50] Nagl K. 1978 In Seed Protein Improvement by Nuclear Techniques. PP. 243—252 IAEA, Vienna.
- [51] Payne P. T. 1983 In Seed Protein, J. Daussant, J. Mossé and J. Vaughan eds. P. 223—253. Academic Press, London/New York.
- [52] Patwardhan, V. N. and Ramachandran M. 1960 Sci. Cult. 25, 401—407.
- [53] Potter W. H., Maner J. H., Axtell J. D. and Keim W. F. 1974. Crop Sci. 14, 652—654.
- [54] Pandey M. P., Erauen, M. and Paul C. 1979 In Seed Protein Improvement in Cereals and Grain Legumes. Vol. II. P. 37—45 IAEA, Vienna.
- [55] Randall P. J., Thomson J. A., and Schroeder H. E. 1979 Aust. J. Plant Physiol. 6, 11—24.
- [56] Radford R. L., Chavengsakongkram C. and Hymowitz 1977 Crop Sci. 17, 273—277.
- [57] Sykes G. E., Gayler K. R. 1981 Arch. Biochem. Biophys. 210, 525—530.
- [58] Stewart B. A. 1966 In Soil Chemistry and Fertility P. 131. Int. Soil Science Society, Aberdeen.
- [59] Singh D. K., Gupta Y. P. and Das N. B. 1960 Ann. Biochem. 20, 1—6.
- [60] Wood D. R., Nowick E. A., Fabiao H. J. and McClean P. E. 1979 In Seed Protein Improvement in Cereals and Grain Legumes. Vol. II. 69—83. IAEA, Vienna.